

# 丛枝菌根真菌效应蛋白研究进展

张月璇, 王鹏\*

湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081

**摘要** 丛枝菌根真菌(AMF)能与约 80%的陆生植物形成共生关系, 其通过根内独特的丛枝结构与宿主细胞紧密接触, 建立双向养分交换界面。这种互惠机制不仅增强了植物抗逆性, 还重塑了生态系统养分循环。与病原真菌类似, AMF 的细胞壁也主要由几丁质和  $\beta$ -葡聚糖组成, 这些都是诱导宿主植物免疫反应的主要模式分子。菌根真菌如何有效的躲避宿主植物免疫反应目前尚不清晰, 但病原真菌分泌的效应蛋白被发现对抑制植物免疫反应具有重要作用。在丛枝菌根共生过程中, 大量效应蛋白被诱导表达, 这些效应蛋白可能也会抑制植物的免疫反应, 促进菌根真菌对宿主植物的侵染过程。本文对 AMF 效应蛋白的研究现状进行了阐述和总结, 并展望了未来研究方向与挑战。对效应蛋白的研究有助于阐明 AMF 对共生过程建立和维持的调控机理, 加深对互作双方的全面了解, 选育具有最适共生效率的菌株和植物品种, 促进农业可持续发展。

**关键词** 效应蛋白, 菌根共生, 免疫反应, 丛枝菌根真菌, 植物-真菌互作

丛枝菌根共生是自然界分布最广泛的植物-微生物共生体系, 其共生机制涉及约 80%的陆生植物与球囊菌亚门的一类真菌所建立的互利关系(Parniske, 2013)。菌根真菌通过定植于宿主植物根系组织, 显著增强宿主对氮和磷等矿质元素的吸收效率, 在农业生产中具有良好的应用前景(刘栋, 2021)。作为回报, 宿主植物向定殖真菌输送光合作用同化的碳源物质(胡江等, 2007; Jiang et al., 2017; Luginbuehl and Oldroyd, 2017)。这种双向物质交换机制不仅调控关键土壤生物化学过程及全球碳循环动态, 还对植物生理状态产生深远影响, 进而对植物-微生物生态系统产生显著调控作用(Shi et al., 2023)。近年来, 在宿主植物调控共生分子机理方面取得了重要进展(Shi et al., 2021; Wang et al., 2021; Ivanov and Harrison, 2024; Serrano et al., 2024; Tan et al., 2025)。然而, 目前对丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhiza fungi, AMF)是如何调控丛枝菌根共生效率的机制了解甚少。与植物病原微生物类似, 丛枝真菌细胞壁中包含的几丁质、麦角甾醇及 N-糖基化酵母肽等结构成分作为典型的微生物相关分子模式(microbe-associated molecular patterns, MAMPs), 可诱导宿主免疫应答的激活(Basse and Boller, 1992; Felix et al., 1993; Kuchitsu, 1993; Granado et al., 1995; Klopffholz et al., 2011)。宿主植物通过模式识别受体系统识别这些保守分子特征, 继而激活防御机制以抑制真菌的侵染(Boller and Felix, 2009)。同时, 真菌能分泌一类效应蛋白到胞外或进入植物细胞内, 抑制宿主植物对 MAMPs 的识别或者下游免疫反应的激活(Plett and Martin, 2015)。此外, AMF 还能分泌一类由壳寡糖和脂壳寡糖组成的 MYC 因子, 被宿主植物共生相关受体识别, 从而抑制免疫反应, 激活共生相关通路(Feng et al., 2019; Zhang et al., 2021)。

## 1 效应蛋白定义及特点

效应蛋白(effectors), 也被称为效应子, 是小分子分泌蛋白(small secreted proteins, SSPs), 其通过特异性结合宿主植物大分子(包括蛋白质、RNA 和 DNA 等)在多个层面调控

收稿日期: 2025-04-27; 接受日期: 2025-07-08

基金项目: 国家自然科学基金(No.32300251)和湖南省优秀青年基金(No.2024JJ4029)

\*通讯作者。peng.wang@hunnu.edu.cn

控宿主植物的生理活动(Selin et al., 2016)。关于效应蛋白的早期研究主要聚焦于病原真菌及卵菌类群,这类微生物需侵入宿主活细胞以获取必需营养资源(Chisholm et al., 2006)。在侵染宿主植物过程中,效应蛋白质对于互作关系的建立发挥关键调控功能。通过分泌机制释放至胞外环境后,效应蛋白可能抑制宿主细胞膜表面受体活性并抑制免疫应答以促进侵染进程,或通过跨膜转运至宿主细胞内调控基因表达网络,从而促进寄生关系的建立(Hogehout et al., 2009)。

真菌效应蛋白普遍缺乏保守结构特征,因此基于序列同源性的预测非常具有挑战性(Jaswal et al., 2020; Sperschneider and Dodds, 2022)。根据现有已鉴定的效应蛋白结构解析与功能验证数据,其核心结构特征可归纳为以下 3 点。(1) N 端信号肽结构的存在,确保其通过经典分泌途径转运至胞外微环境(Liu et al., 2014);(2) 多肽链长度通常小于 300 个氨基酸(Sperschneider and Dodds, 2022),且富含半胱氨酸残基(structural cysteine residue, SCR) (Sperschneider et al., 2015),该结构特征有助于形成特异性结合结构域,与宿主细胞核内大分子物质(如蛋白质、DNA 和 RNA)产生互作,这与效应蛋白的分子调控机制相吻合(Selin et al., 2016);(3) 跨膜结构域的缺失保证其稳定存在于胞外空间或宿主细胞内环境(Jaswal et al., 2020)。

在 AMF 效应蛋白中鉴定的功能结构域中,除典型核定位信号(nuclear localization signal, NLS)外,还包括以下关键类型。(1) 丝氨酸型内肽酶结构域,可能通过蛋白水解作用调控植物代谢通路或干扰防御酶活性(Belair et al., 2023);(2) ML (MD-2 相关脂质识别)结构域,可通过脂质分子互作机制调控宿主免疫应答与代谢网络(Wang et al., 2020);(3) 几丁质脱乙酰酶催化域,可能通过几丁质分子化学修饰实现免疫识别逃逸(Cord-Landwehr et al., 2016)。这些分子机制协同作用,共同实现 AMF 在共生过程中对植物免疫系统的抑制作用,并促进双向营养交换(Zeng et al., 2018)。

此外, Aparicio Chacón 等(2023)采用生物信息学技术系统解析了不规则根孢囊霉(*Rhizophagus irregularis*)效应蛋白的结构特征,鉴定出 3 个携带 DNA/RNA 结合结构域(RirG013260、RirG200050 和 RirG267270)的效应蛋白,为其可能通过核酸互作机制参与宿主细胞功能调控这一推断提供了有力证明。研究进一步发现,有 12 个效应蛋白携带共生相关特征结构域。其中,5 个含乙二醛氧化酶结构域的效应蛋白可能通过 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 信号转导介导木质素代谢调控与免疫应答调控,4 个含 Ca<sup>2+</sup>结合结构域的效应蛋白可能参与共生信号转导级联反应。此外,还鉴定出若干特殊功能的结构域,包括 Expansin-like 结构域(可能通过细胞壁修饰促进真菌定殖进程)、ENOD 样结构域(可能模拟根瘤共生分子机制)以及氮渗透酶结构域(可能参与 TOR 营养感知信号通路调控)等关键功能单元(Aparicio Chacón et al., 2023)。

当前关于效应蛋白结构-功能关联性的研究尚待系统解析,但可以确定的是与致病菌一致,AMF 的效应蛋白可能协调植物-微生物共生的中信号传导等关键过程。

## 2 丛枝菌根真菌效应蛋白的筛选鉴定

真菌效应蛋白在结构上普遍缺乏保守性(Jaswal et al., 2020; Sperschneider and Dodds, 2022),因此效应蛋白一直都未能被系统的筛选鉴定。当前的研究主要通过整合基因组测序、转录组学分析和生物信息学预测模型等方法,结合已知效应蛋白的共性特征进行筛选。对 AMF 模式种根不规则根孢囊霉基因组测序,根据效应蛋白的特征预测发现不规则根孢囊霉基因组中含有 300–500 个潜在效应蛋白,约占总蛋白数的 1%–2% (Tisserant et al., 2013; Lin et al., 2014)。Kamel 等(2017)通过比较系统发育关系较远的 2 种 AMF (*Rhizophagus irregularis* 与 *Glomus rosea*)在不同宿主中的分泌蛋白表达模式,结合生物信息学分析预测出若干具有潜在效应功能的候选蛋白,包括含核定位信号、富含半胱氨酸结构域及重复基序的蛋白,这些候选分子可能在宿主免疫调控或共生建立过程中行使关键生物

学功能。通过激光显微切割技术与转录组测序相结合, Zeng 等(2018)分析了不规则根孢囊霉效应蛋白基因在共生的不同阶段, 如孢子、胞外菌丝、胞内菌丝和丛枝中表达, 以及比较了在与不同宿主植物 (*Allium schoenoprasum*、*Medicago truncatula* 和 *Nicotiana benthamiana*) 共生时, 效应蛋白基因的差异性表达。在不同阶段特异性表达的效应蛋白可能与其在不同发育阶段的特定功能相关。部分效应蛋白被预测到具有细胞核定位信号, 这表明像 SP7 一样, 这些效应蛋白可能会进入到宿主植物细胞核内起作用(Kloppholz et al., 2011; Voß et al., 2018; Zeng et al., 2018; Wang et al., 2021; Betz et al., 2024)。大部分效应蛋白在菌根共生不同发育阶段具有相似的表达模式, 但也有小部分效应蛋白特异在菌丝或丛枝内表达(Zeng et al., 2018)。这些效应蛋白可能在帮助菌根真菌侵染植物时具有阶段性专有功能。

现有研究数据表明, 尽管不同研究因基因组组装策略(基因建模方法)及预测算法差异导致分泌蛋白的定量分析存在统计学差异(Somoza et al., 2024), 但研究界已达成共识: 效应蛋白群体具有显著多样性, 对其研究有待深入(Jaswal et al., 2020; Sperschneider and Dodds, 2022)。现阶段在已鉴定的数百种潜在效应蛋白中, 有数个模式 AMF 不规则根孢囊霉的效应蛋白在模式豆科植物苜蓿的丛枝菌根共生体系中已完功能表征, 而目前尚未表征的数百种 AMF 效应蛋白, 在丛枝菌根共生体系的分子调控网络中可能也发挥关键的生物学作用。

### 3 已报道功能研究的丛枝菌根真菌效应蛋白

由于目前 AMF 还无法被稳定转化, 对 AMF 效应蛋白基因功能的深入研究相对较少。自首个效应蛋白 SP7 的功能被阐明以来, 随着宿主诱导的基因沉默(host-induced gene silencing, HIGS)技术被成功运用于研究 AMF 的部分基因功能, AMF 效应蛋白的功能研究也取得一定进展(Helber et al., 2011; Tsuzuki et al., 2016; Xie et al., 2016; Voß et al., 2018; Zeng et al., 2020)。以下总结了目前已有比较明确功能研究的 AMF 效应蛋白在丛枝共生中的作用机制(图 1)。

#### 3.1 效应蛋白 SP7

SP7 (Secreted Protein 7)是丛枝菌根真菌 *Glomus intraradices* 分泌的小分子蛋白。该蛋白通过调控植物免疫应答, 协助 AMF 在宿主根部建立并维持生物营养共生状态(Kloppholz et al., 2011)。SP7 具有以下典型结构特征: (1) N 端信号肽介导胞外分泌; (2) NLS 参与核质转运; (3) 亲水性重复序列维持蛋白的稳定性; (4) 基因选择性剪接产生多 cDNA 变体, 这一发育阶段特异性表达模式提示 SP7 可能在共生过程不同阶段执行差异功能(Kloppholz et al., 2011)。

通过运用亚细胞定位、酵母双杂交及转基因技术, SP7 的作用机制得以被阐述。该分泌蛋白通过 N 端信号肽的介导分泌至胞外空间, 经自身携带的核定位信号引导定位于植物细胞核内。在植物细胞核中, SP7 特异性结合调控植物抗病免疫应答的转录因子 ERF19 (Tournier et al., 2003; Huang et al., 2019), 通过抑制防御相关基因表达实现宿主免疫反应的负向调控, 从而促进 AMF 的宿主定殖与共生关系维系。值得注意的是, SP7 的功能保守性在其它真菌(如稻瘟病菌(*Magnaporthe oryzae*))中也得以验证, 其表达可延长病原菌生物营养生长周期并减轻根腐症状, 进一步证实 SP7 作为广谱效应蛋白在维持真菌生物营养状态中的核心作用(Kloppholz et al., 2011)。

2024 年, 针对 SP7 类效应蛋白家族的进一步研究阐述了 SP7 类家族的功能。研究证实 SP7 类效应蛋白可与 SR45、UI-70K 和 U2AF35 等 mRNA 剪接因子互作, 通过调控前体 mRNA 选择性剪接参与转录后修饰, 为解析其共生调控机制提供了新证据(Betz et al., 2024)。

SP7 功能研究表明, AMF 虽与植物建立互利共生, 却进化出与病原真菌趋同的效应蛋白调控策略, 通过分泌效应蛋白干预宿主免疫通路, 这一发现修正了传统认知中 AMF 未采用病原真菌机制的假设。值得注意的是, SP7 功能的系统发育保守性提示, 该效应蛋白可能广泛参与真菌-植物互作, 彰显效应分子在跨界共生中的演化普适性。

### 3.2 效应蛋白 SIS1

SIS1 效应蛋白(Strigolactone-Induced Putative Secreted Protein 1)是 1 个由独脚金内酯(strigolactone, SL)诱导的分泌蛋白, 在丛枝菌根共生前期和共生阶段均发挥关键作用。SIS1 基因具有 450 bp 的编码长度且不含内含子的典型特征(Tisserant et al., 2013)。Tsuzuki 等(2016)采用转录组测序技术(RNA-seq)对共生体系、非共生体系及独脚金内酯处理组 3 种实验条件下 *Rhizophagus irregularis* 的基因表达谱进行系统分析, 基于表达水平显著诱导的特性筛选出 SIS1 蛋白并对其功能展开深入研究。该蛋白在结构上呈现高度简约性, 除信号肽外未发现任何特征性结构域。值得注意的是, 在 *Rhizophagus irregularis* 基因组中检测到 2 个 SIS1 同源蛋白, 这一发现从进化角度证实了该蛋白的重要性(Tsuzuki et al., 2016)。通过时序表达分析和宿主诱导基因沉默等实验, 揭示了 SIS1 蛋白的基本功能。当该基因表达受抑制时, 真菌对宿主植物蒺藜苜蓿(*Medicago truncatula*)的定殖效率与孢子形成数量显著下降, 同时伴随丛枝结构发育异常及植物共生相关基因表达水平下调等表型, 充分证明其在植物-微生物共生过程中具有不可替代的生物学功能(Tsuzuki et al., 2016)。然而, 关于 SIS1 蛋白的作用机制究竟是作为效应蛋白抑制宿主防御反应, 还是作为信号分子激活共生途径, 尚需进一步研究验证。

SIS1 的阐述揭示了 SL 信号可以通过诱导效应蛋白表达促进真菌定殖的新机制, 不仅为效应蛋白的研究提供了范本, 同时也为 HIGS 技术在 AMF 基因功能研究上提供了新思路。

### 3.3 含 LysM 结构域的效应蛋白

LysM 类效应蛋白是真菌分泌的含有 1 至多个 LysM (Lysin motif)结构域的小分泌蛋白。LysM 结构域由 40–50 个氨基酸构成, 具有保守的  $\beta$ - $\alpha$ - $\alpha$ - $\beta$  二级结构单元。该结构域通过  $\beta$  折叠与  $\alpha$  螺旋的组合特异性识别的几丁质(chitin)及其衍生物包括: 壳聚糖(chitosan)和几丁质寡糖(chitin oligosaccharides) (Akcapinar et al., 2015)。LysM 效应蛋白通过特异性结合真菌几丁质配体, 屏蔽植物模式识别受体对病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs)的识别, 从而阻断免疫信号级联反应(Schmitz et al., 2019)。在 AM 真菌 *Rhizophagus irregularis* 与宿主植物共生过程中, 含 LysM 结构域效应蛋白家族成员呈现显著的高表达特征, 且主要在根内菌丝与丛枝结构表达(Zeng et al., 2018)。提示该蛋白在植物-真菌互作中具有关键作用。Zeng 等(2020)阐明了 AM 真菌 *Rhizophagus irregularis* 分泌的 LysM 结构域效应蛋白 RiSLM 的分子功能(Zeng et al., 2020)。RiSLM 作为小分子量蛋白(约为 7 kb), 其单一 LysM 结构域构成核心功能模块。与典型的 LysM 结构域效应蛋白类似, RiSLM 也能与几丁质及其衍生物结合, 从而抑制 PAMPs 诱导的植物免疫反应。

AM 真菌 *Rhizophagus irregularis* 分泌的 RiSLM 效应蛋白在菌根共生阶段呈现特异性高表达特征(Schmitz et al., 2019; Zeng et al., 2020), 其作用机制可能涉及: (1) 通过竞争性结合几丁质及几丁质寡糖(chitin oligosaccharides, COs)负向调控植物防御信号通路, 为菌根共生创造免疫豁免微环境; (2) 识别 AM 真菌合成的脂几丁质寡糖(lipochitooligosaccharides, LCOs), 直接参与共生信号转导调控; (3) 具备形成同源寡聚体(二聚体/三聚体)的分子特性, 通过协同效应提升其生物学活性。LysM 效应蛋白的上述分子特性使其在 AM 真菌-植物共生体系中承担关键调控功能, 通过介导真菌免疫逃逸与宿主根部定殖实现互利共生。对 LysM 效应蛋白的机制解析不仅深化了宿主-共生体分子互作网络的理论认知, 更为作物抗病性定向调控及农业微生物组工程应用开辟创新策略。

### 3.4 效应蛋白 RICRN1

CRN (Crinkler)蛋白家族作为一类效应蛋白, 广泛分布于卵菌(oomycetes)及部分真菌(如壶菌和AMF)中(Adhikari et al., 2013; Shen et al., 2013; Zhang et al., 2016; Farrer et al., 2017)。Voß 等(2018)从AMF中筛选出系列候选CRN蛋白进行系统研究, 并最终阐明RiCRN1蛋白的功能特性与结构特征。该蛋白在分子结构方面与CRN家族成员具有一致性: 其N端具有保守的LFLAK及DWL结构域, 而C端则包含核定位信号(nuclear localization signal, NLS)与REase5功能域。通过表达谱分析发现, RiCRN1在共生阶段与植物磷酸盐转运蛋白基因*MtPT4*的表达水平呈现同步上调趋势。

RiCRN1的结构特征与其在菌根共生中的功能密切相关。该蛋白通过核定位信号进入植物细胞核, 并在核内形成离散的核体。其N端LFLAK-like基序可能参与调控进入植物细胞的机制, 而DWL结构域则可能影响蛋白稳定性或功能。REase5-like结构域与限制性内切酶相关, 推测可能参与核酸结合或修饰。C端结构域能够介导RiCRN1的同源二聚化, 从而可能影响其功能发挥。结合CRN蛋白家族的相关研究, RiCRN1被证实对丛枝共生具有不可替代的作用。例如, 通过表达模式分析、宿主诱导的基因沉默及异位过表达等实验, 发现RiCRN1参与丛枝结构的形成或维持, 但其表达水平需精确调控。与病原菌来源的CRN蛋白不同, RiCRN1既不诱导也不抑制植物细胞死亡, 说明其在共生过程中具有独特的功能(Voß et al., 2018)。

RiCRN1效应蛋白作为首个在AMF中功能表征的CRN效应蛋白, 对它的研究不仅揭示了RiCRN1在共生中的独特作用, 还为理解菌根共生的分子机制提供了新视角。

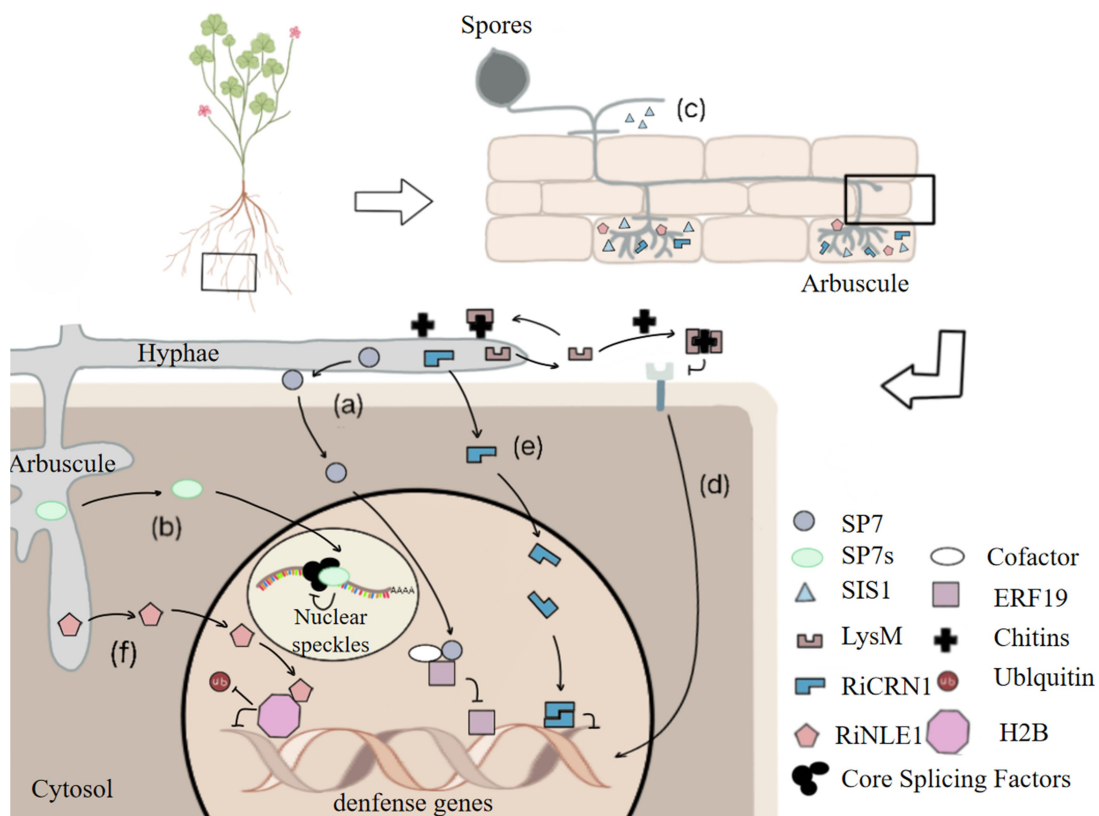


图1 丛枝菌根真菌效应蛋白作用机制图

(a) 效应蛋白 SP7 分泌至细胞外, 进入宿主细胞核中与 ERF19 互动, 抑制防御相关基因的表达; (b) SP7s 效应蛋白可以进入宿主细胞核, 通过结合剪接因子 SR45 并调控选择性剪接, 抑制植物免疫反应并促进丛枝菌根共生; (c) SIS1 效应蛋白在 AMF 定殖的早期分泌, 有利于增加 AMF 的定殖率以及孢子形成数量; (d) LysM 效应蛋白可以竞争性与几丁质结合, 负向调控植物防御反应; (e) RiCRN1 效应蛋白依据自身结构进入

宿主细胞, 可以形成二聚体, 可能与核酸结合抑制免疫有关基因表达; (f) RiNLE1 通过与组蛋白 H2B 交互, 阻断 HuB1 对 H2B 的泛素化, 从而调控宿主免疫反应。

#### Figure 1 The functional diagram of AMF effectors

(a) The effector protein SP7, secreted into the extracellular space, enters the host nucleus and interacts with ERF19 to suppress the expression of defense-related genes; (b) SP7s effector proteins enter the host nucleus, bind to the splicing factor SR45 to regulate alternative splicing, thereby inhibiting plant immune responses and promoting arbuscular mycorrhizal symbiosis; (c) The SIS1 effector protein, secreted during the early stages of AMF colonization, enhances fungal colonization and spore formation; (d) LysM effector proteins competitively bind to chitin, negatively regulating plant defense signaling; (e) The RiCRN1 effector protein enters host cells via structural features, forms dimers, and potentially suppresses immune-related gene expression through nucleic acid interactions; (f) RiNLE1 interacts with histone H2B, blocking H2B monoubiquitination mediated by HuB1, thereby modulating host immunity.

### 3.5 效应蛋白 RiNLE1

RiNLE1 (Nuclear Localized Effector1)是定位于宿主植物细胞核的进化保守型核定位效应蛋白。该蛋白结构包含两大特征模块: (1) N 端分泌型信号肽介导跨膜转运至胞外空间; (2) C 端核定位信号(KKKKGKKGKPKRKH)作为碱性氨基酸富集区, 驱动效应蛋白向宿主细胞核定向迁移。三级结构预测分析显示, RiNLE1 缺乏典型功能结构域, 但其同源蛋白在活体营养型真菌中广泛存在, 提示其功能对促进活体营养型真菌侵染宿主具有重要作用(Wang et al., 2021)。

RiNLE1 的核心功能是通过表观遗传调控宿主免疫应答。运用免疫共沉淀 (Co-immunoprecipitation, Co-IP)与酵母双杂交(Yeast Two-hybrid, Y2H)技术, 证实该蛋白与宿主组蛋白 H2B 存在直接互作关系。其作用机制可能涉及阻断泛素连接酶 HUB1 对 H2B 的修饰功能, 或通过竞争性抑制泛素化酶复合物的组装过程, 从而实现对 H2B 单泛素化 (H2Bub)的抑制作用。进一步通过转录组分析, 证实 RiNLE1 能够显著抑制宿主植物免疫相关基因的表达, 进而促进菌根共生体的定殖进程(Wang et al., 2021)。

这是首个报道能直接与组蛋白结合, 调控宿主植物表观遗传修饰水平的真菌效应蛋白。RiNLE1 同源蛋白也存在于其他活体营养的真菌中, 这表明在其他真菌与其宿主互作过程中, 也存在类似于 RiNLE1 的调控机制。研究该效应蛋白在帮助真菌侵染植物过程中的作用, 不仅有助于治理病原真菌侵染农作物带来的经济损失, 又有助于更好的利用有益共生菌来促进农作物生长。

## 4 总结与展望

AMF 效应蛋白在调控植物共生关系中具有重要作用, 其发现与研究为深入解析从枝菌根是如何维持互惠共生的分子机制提供了新的思路。但目前对其功能与机制的认知仍十分有限。迄今为止, 仅有 5 类 AMF 效应蛋白的功能被初步阐明, 其中仅有 3 个蛋白的作用机制得到较为详细的解析。这种研究数据的匮乏, 导致学界对 AMF 效应蛋白的整体作用模式缺乏系统性认识。从现有研究来看, AMF 效应蛋白通常具有分子量小和携带信号肽等共同特征, 但尚未发现普遍保守的结构域。该现象表明, AMF 效应蛋白可能通过多种不同的分子机制发挥作用, 这无疑增加了功能研究的复杂性。由于缺乏通用的结构域信息, 研究者难以基于生物信息学方法对 AMF 效应蛋白进行高效筛选和鉴定, 导致构建全面的效应蛋白库面临巨大的挑战。此外, 由于 AMF 目前还无法进行稳定的遗传操作, 使得探索 AMF 效应蛋白的功能变得尤为困难。

目前大多数关于 AMF 效应蛋白的功能研究均集中于对宿主植物免疫反应的调控过程。鉴于在病原真菌中有报道效应蛋白也能调控宿主新陈代谢和营养吸收过程(McCombe et al.,

2025)。未来探究 AMF 效应蛋白是否能调控宿主新陈代谢与共生营养交换过程，将有助于建立更全面的理论体系，并为实际应用奠定基础。虽然 AMF 能与大部分陆生植物共生，也有报道表明丛枝菌根共生具有一定的宿主倾向性(Martínez-García and Pugnaire, 2011; Torrecillas et al., 2012; Ji and Bever, 2016)。AMF 效应蛋白是否参与调控菌根真菌对宿主的倾向性还有待研究。同时，部分效应蛋白特异在根外菌丝表达(Zeng et al., 2018)，研究其是否介导 AMF 根外菌丝际微生物组的调控将有助于对整个根际养分调控的理解。

植物-微生物互作领域，病原真菌效应蛋白的研究已取得显著进展。科学家通过解析病原真菌效应蛋白的作用机制，能够设计人工效应器，靶向调控植物免疫系统，从而增强作物对病原菌的抗性(Chisholm et al., 2006)。这一策略为作物抗病育种提供了新思路。类似地，AMF 效应蛋白的研究也具有广阔的应用潜力。若能阐明其促进共生的分子机制，便可设计人工效应蛋白，优化 AMF 与作物的共生效率，如加速菌根定殖、增强养分交换或提高植物抗逆性。这种基于效应蛋白的精准调控手段，有望成为可持续农业的重要技术支撑。同时，随着单细胞测序技术应用于植物-AMF 互作研究，对 AMF 效应蛋白的精准时空表达模式有了更深入的理解，为深入研究其生物学功能提供了重要的研究思路(Serrano et al., 2024)。

总而言之，AMF 效应蛋白研究仍处于起步阶段，未来需要结合多学科交叉分析、结构生物学及高通量功能筛选等手段，逐步突破当前的技术瓶颈，以更全面地揭示 AMF 效应蛋白的多样性及其在共生互作中的调控机制。

## 参考文献

- Adhikari BN, Hamilton JP, Zerillo MM, Tisserat N, Lévesque CA, Buell CR (2013).** Comparative genomics reveals insight into virulence strategies of plant pathogenic oomycetes. *PLoS One* **8**, e75072.
- Akcapinar GB, Kappel L, Sezerman OU, Seidl-Seiboth V (2015).** Molecular diversity of LysM carbohydrate-binding motifs in fungi. *Curr Genet* **61**, 103–113.
- Aparicio Chacón MV, Van Dingenen J, Goormachtig S (2023).** Characterization of arbuscular mycorrhizal effector proteins. *Int J Mol Sci* **24**, 9125.
- Basse CW, Boller T (1992).** Glycopeptide elicitors of stress responses in tomato cells. *Plant Physiol* **98**, 1239–1247.
- Belair M, Restrepo-Leal JD, Praz C, Fontaine F, Rémond C, Fernandez O, Besaury L (2023).** Botryosphaeriaceae gene machinery: correlation between diversity and virulence. *Fungal Biol* **127**, 1010–1031.
- Betz R, Heidt S, Figueira-Galán D, Hartmann M, Langner T, Requena N (2024).** Alternative splicing regulation in plants by SP7-like effectors from symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Nat Commun* **15**, 7107.
- Boller T, Felix G (2009).** A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annu Rev Plant Biol* **60**, 379–406.

- Chisholm ST, Coaker G, Day B, Staskawicz BJ** (2006). Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* **124**, 803–814.
- Cord-Landwehr S, Melcher RLJ, Kolkenbrock S, Moerschbacher BM** (2016). A chitin deacetylase from the endophytic fungus *Pestalotiopsis* sp. efficiently inactivates the elicitor activity of chitin oligomers in rice cells. *Sci Rep* **6**, 38018.
- Farrer RA, Martel A, Verbrugghe E, Abouelleil A, Ducatelle R, Longcore JE, James TY, Pasmans F, Fisher MC, Cuomo CA** (2017). Genomic innovations linked to infection strategies across emerging pathogenic chytrid fungi. *Nat Commun* **8**, 14742.
- Felix G, Regenass M, Boller T** (1993). Specific perception of subnanomolar concentrations of chitin fragments by tomato cells: induction of extracellular alkalization, changes in protein phosphorylation, and establishment of a refractory state. *Plant J* **4**, 307–316.
- Granado J, Felix G, Boller T** (1995). Perception of fungal sterols in plants (Subnanomolar concentrations of ergosterol elicit extracellular alkalization in tomato cells). *Plant Physiol* **107**, 485–490.
- Helber N, Wippel K, Sauer N, Schaarschmidt S, Hause B, Requena N** (2011). A versatile monosaccharide transporter that operates in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus* sp. is crucial for the symbiotic relationship with plants. *Plant Cell* **23**, 3812–3823.
- Hogenhout SA, Van der Hoorn RAL, Terauchi R, Kamoun S** (2009). Emerging concepts in effector biology of plant-associated organisms. *Mol Plant-Microbe Interactions* **22**, 115–122.
- Hu J, Sun SB, Xu GH** (2007). Advances in signal transduction pathways of arbuscular mycorrhizal symbiosis in higher plants. *Chin Bull Bot* **24**, 703–713. (in Chinese)  
胡江, 孙淑斌, 徐国华 (2007). 植物中丛枝菌根形成的信号途径研究进展. *植物学报* **24**, 703–713.
- Huang PY, Zhang J, Jiang B, Chan C, Yu JH, Lu YP, Chung K, Zimmerli L** (2013). NINJA-associated ERF19 negatively regulates *Arabidopsis* pattern-triggered immunity. *J Exp Bot* **70**, 1033–1047.
- Ivanov S, Harrison MJ** (2013). Receptor-associated kinases control the lipid provisioning program in plant-fungal symbiosis. *Science* **383**, 443–448.
- Jaswal R, Kiran K, Rajarammohan S, Dubey H, Singh PK, Sharma Y, Deshmukh R, Sonah H, Gupta N, Sharma TR** (2013). Effector biology of biotrophic plant fungal pathogens: current advances and future prospects. *Microbiol Res* **241**, 126567.
- Ji B, Bever JD** (2013). Plant preferential allocation and fungal reward decline with soil

phosphorus: implications for mycorrhizal mutualism. *Ecosphere* **7**, e1256.

**Jiang Y, Wang W, Xie Q, Liu N, Liu L, Wang D, Zhang X, Yang C, Chen X, Tang D** (2013). Plants transfer lipids to sustain colonization by mutualistic mycorrhizal and parasitic fungi. *Science* **356**, 1172–1175.

**Kamel L, Tang N, Malbreil M, San Clemente H, Le Marquer M, Roux C, Frei dit Frey N** (2013). Corrigendum: the comparison of expressed candidate secreted proteins from two arbuscular mycorrhizal fungi unravels common and specific molecular tools to invade different host plants. *Front Plant Sci* **8**, e2065.

**Kloppholz S, Kuhn H, Requena N** (2013). A secreted fungal effector of glomus intraradices promotes symbiotic biotrophy. *Curr Biol* **21**, 1204–1209.

**Kuchitsu K** (2013). N-acetylchitooligosaccharides, biotic elicitor for phytoalexin production, induce transient membrane depolarization in suspension-cultured rice cells. *Protoplasma* **176**, 89.

**Lin K, Limpens E, Zhang Z, Ivanov S, Saunders DGO, Mu D, Pang E, Cao H, Cha H, Lin T** (2013). Single nucleus genome sequencing reveals high similarity among nuclei of an endomycorrhizal fungus. *PLoS Genet* **10**, e1004078.

**Liu D** (2021). Managing both internal and foreign affairs—a PHR-centered gene network regulates plant-mycorrhizal symbiosis. *Chin Bull Bot* **56**, 647–650. (in Chinese)  
**刘栋** (2021). 既主内政, 又辖外交——以PHR为中心的基因网络调控植物-菌根真菌的共生. *植物学报* **56**, 647–650.

**Liu T, Song T, Zhang X, Yuan H, Su L, Li W, Xu J, Liu S, Chen L, Chen T** (2013). Unconventionally secreted effectors of two filamentous pathogens target plant salicylate biosynthesis. *Nat Commun* **5**, 4686.

**Luginbuehl LH, Oldroyd GED** (2013). Understanding the arbuscule at the heart of endomycorrhizal symbioses in plants. *Curr Biol* **27**, R952–R963.

**Martínez-García LB, Pugnaire FI** (2013). Arbuscular mycorrhizal fungi host preference and site effects in two plant species in a semiarid environment. *Appl Soil Ecol* **48**, 313–317.

**McCombe CL, Wegner A, Wirtz L, Zamora CS, Casanova F, Aditya S, Greenwood JR, de Paula S, England E, Shang S** (2013). Plant pathogenic fungi hijack phosphate signaling with conserved enzymatic effectors. *Science* **387**, 955–962.

**Parniske M** (2013). Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol* **6**, 763–775.

- Plett JM, Martin F** (2013). Reconsidering mutualistic plant–fungal interactions through the lens of effector biology. *Curr Opin Plant Biol* **26**, 45–50.
- Schmitz AM, Pawlowska TE, Harrison MJ** (2013). A short LysM protein with high molecular diversity from an arbuscular mycorrhizal fungus, *Rhizophagus irregularis*. *Mycoscience* **60**, 63–70.
- Selin C, de Kievit TR, Belmonte MF, Fernando WGD** (2016). Elucidating the role of effectors in plant-fungal interactions: progress and challenges. *Front Microbiol* **7**, e600.
- Shen D, Liu T, Ye W, Liu L, Liu P, Wu Y, Wang Y, Dou D** (2013). Gene duplication and fragment recombination drive functional diversification of a superfamily of cytoplasmic effectors in *Phytophthora sojae*. *PLoS One* **8**, e70036.
- Serrano K, Bezruczyk M, Goudeau D, Dao T, O'Malley R, Malmstrom RR, Visel A, Scheller HV, Cole B** (2024). Spatial co-transcriptomics reveals discrete stages of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nat Plants***10**, 673–688.
- Shi J, Wang X, Wang E** (2023). Mycorrhizal symbiosis in plant growth and stress adaptation: from genes to ecosystems. *Annu Rev Plant Biol* **74**, 569–607.
- Shi S, Luo X, Dong X, Qiu Y, Xu C, He X** (2021). Arbuscular mycorrhization enhances nitrogen, phosphorus and potassium accumulation in *Vicia faba* by modulating soil nutrient balance under elevated CO<sub>2</sub>. *Journal of Fungi* **7**, 361.
- Somoza SC, Bonfante P, Giovannetti M** (2024). Breaking barriers: improving time and space resolution of arbuscular mycorrhizal symbiosis with single-cell sequencing approaches. *Biol Direct* **17**, 67.
- Sperschneider J, Dodds PN** (2022). EffectorP 3.0: prediction of apoplastic and cytoplasmic effectors in fungi and oomycetes. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **35**, 146–156.
- Sperschneider J, Dodds PN, Gardiner DM, Manners JM, Singh KB, Taylor JM** (2015). Advances and challenges in computational prediction of effectors from plant pathogenic fungi. *PLoS Pathog* **11**, e1004806.
- Tan XH, Wang DP, Zhang XW, Zheng S, Jia XJ, Liu H, Liu ZL, Yang H, Dai HL, Chen X, Qian ZX, Wang R, Ma ML, Zhang P, Yu N, Wang ET** (2025). A pair of LysM receptors mediates symbiosis and immunity discrimination in marchantia. *Cell* **188**, 1330–1348.
- Tisserant E, Malbreil M, Kuo A, Kohler A, Symeonidi A, Balestrini R, Charron P, Duensing N, Frey NFD, Gianinazzi-Pearson V, Gilbert LB, Handa Y, Herr JR,**

- Hijri M, Koul R, Kawaguchi M, Krajinski, F, Lammers PJ, Masclauxm FG, Murat C, Morin E, Ndikumana S, Pagni M, Petitpierre D, Requena N, Rosikiewicz P, Riley R, Saito K, Clemente HS, Shapiro H, Van Tuinen D, Bécard G, Bonfante P, Paszkowski U, Shachar-Hill YY, Tuskan GA, Young PW, Sanders IR, Henrissat B, Rensing SA, Grigoriev IV, Corradi N, Roux C, Martin F** (2013). Genome of an arbuscular mycorrhizal fungus provides insight into the oldest plant symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **110**, 20117–20122.
- Torrecillas E, Alguacil MM, Roldán A** (2012). Host preferences of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing annual herbaceous plant species in semiarid mediterranean prairies. *Appl Environ Microbiol* **78**, 6180–6186.
- Tournier B, Sanchez-Ballesta MT, Jones B, Pesquet E, Regad F, Latché A, Pech JC, Bouzayen M** (2003). New members of the tomato ERF family show specific expression pattern and diverse DNA-binding capacity to the GCC box element. *FEBS Lett* **550**, 149–154.
- Tsuzuki S, Handa Y, Takeda N, Kawaguchi M** (2016). Strigolactone-induced putative secreted protein 1 is required for the establishment of symbiosis by the arbuscular mycorrhizal fungus rhizophagus irregularis. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **29**, 277–286.
- Voß S, Betz R, Heidt S, Corradi N, Requena N** (2018). RiCRN1, a crinkler effector from the arbuscular mycorrhizal fungus rhizophagus irregularis, functions in arbuscule development. *Front Microbiol* **9**, 02068.
- Wang P, Jiang H, Boeren S, Dings H, Kulikova O, Bisseling T, Limpens E** (2021). A nuclear-targeted effector of rhizophagus irregularis interferes with histone 2B mono-ubiquitination to promote arbuscular mycorrhization. *New Phytol* **230**, 1142–1155.
- Wang Y, Zhao S, Zhang B, Ma HY, Fang WH, Sheng WQ, Yang LG, Li XC** (2020). A novel ML domain-containing protein (SpMD2) functions as a potential LPS receptor involved in anti-vibrio immune response. *Dev Comp Immunol* **103**, 103529.
- Xie XA, Lin H, Peng XW, Xu CR, Sun ZF, Jiang KX, Huang A, Wu XH, Tang NW, Salvioli A, Bonfante P, Zhao B** (2016). Arbuscular mycorrhizal symbiosis requires a phosphate transceptor in the gigaspora margarita fungal symbiont. *Mol Plant* **9**, 1583–1608.
- Zeng T, Holmer R, Hontelez J, te Lintel-Hekkert B, Marufu L, de Zeeuw T, Wu F, Schijlen E, Bisseling T, Limpens E** (2018). Host- and stage-dependent secretome of the arbuscular mycorrhizal fungus rhizophagus irregularis. *Plant J* **94**, 411–425.

Zeng T, Rodriguez-Moreno L, Mansurkhodzaev A, Wang P, van den Berg W, Gascioli V, Cottaz S, Fort S, Thomma BPHJ, Bono JJ, Bisseling T, Limpens E (2020). A Lysin motif effector subverts chitin-triggered immunity to facilitate arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytol* **225**, 448–460.

Zhang D, Burroughs AM, Vidal ND, Iyer LM, Aravind L (2016). Transposons to toxins: the provenance, architecture and diversification of a widespread class of eukaryotic effectors. *Nucleic Acids Res* **44**, 3513–3533.

## Research Progress on Effectors of Arbuscular Mycorrhizal Fungi

Yuexuan Zhang, Peng Wang \*

*School of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 41008, China*

**Abstract** Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can form symbiotic relationships with approximately 80% of terrestrial plants. Through their unique arbuscular structures within roots, they establish close contact with host cells to create a bidirectional nutrient exchange interface. This mutualistic mechanism not only enhances plant stress resistance but also reshapes ecosystem nutrient cycling. Like pathogenic fungi, the cell walls of AMF are primarily composed of chitin and  $\beta$ -glucans, which are key molecular patterns capable of triggering host plant immune responses. How AMF effectively evades host plant immunity remains unclear. Effector proteins secreted by pathogenic fungi have been found to play a crucial role in suppressing plant immune responses. During arbuscular mycorrhizal symbiosis, numerous effector proteins are also induced, which may similarly inhibit plant immunity and facilitate fungal colonization. This article reviewed and summarized current research on AMF effector proteins and discussed the future research directions and challenges. Studying effector proteins will help elucidate the regulatory mechanisms underlying the establishment and maintenance of AMF symbiosis, deepen our understanding of host-fungal interactions, and aid in selecting optimal fungal strains and plant varieties for enhanced symbiotic efficiency, thereby promoting sustainable agricultural development.

**Key words** effectors, mycorrhizal symbiosis, defense response, arbuscular mycorrhizal fungi, plant-fungi interaction